昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*，December 2007，50(12)：1263 - 1271　ISSN 0454-6296

基于线粒体 COⅠ和 Cytb 基因序列的锯眼蝶亚科和眼蝶亚科的系统发育分析（鳞翅目：眼蝶科）

殷先兵，郝家胜*，许　丽，朱国萍，黄敦元，潘鸿春，张小平

（安徽师范大学生命科学学院分子进化与生物多样性研究室，安徽芜湖　241000）

摘要：为了阐明眼蝶科内一些存疑类群间的系统发生关系，本研究测定了其中最大的 2 个亚科锯眼蝶亚科和眼蝶亚科中分布于中国的 9 族 17 属 21 个种的 COⅠ和 Cytb 基因的部分序列，并结合从 GenBank 中下载的 2 个国外种类的同源序列，进行了序列变异和系统发生分析。序列分析结果显示：处理后的 2 基因总长度为 1 056 bp，其中保守位点 648 个，可变位点 408 个，简约信息位点 316 个；A + T 的平均含量为 70.8%，明显高于 C + G 的平均含量 29.2%。以蛱蝶科的 2 个物种为外群，通过邻接法、最大简约法和贝叶斯法重建了分子系统树，探讨了这两个亚科及其主要类群的系统发生关系，结果表明：眼蝶亚科、锯眼蝶亚科以及黛眼蝶族均为多系类群；眉眼蝶族和黛眼蝶族应从锯眼蝶亚科分离出来，归入眼蝶亚科；眼蝶族、白眼蝶族和莽眼蝶族可能具有较近的共同祖先；古眼蝶族、眉眼蝶族和矍眼蝶族三者之间具有较近的亲缘关系。

关键词：鳞翅目；眼蝶科；COⅠ基因；Cytb 基因；分子系统树；系统发育

中图分类号：Q969　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)12-1263-09

Phylogeny of butterflies of the subfamily Elymninae and Satyrinae (Lepidoptera：Satyridae) based on mitochondrial COⅠ and Cytb gene sequences

YIN Xian-Bing，HAO Jia-Sheng*，XU Li，ZHU Guo-Ping，HUANG Dun-Yuan，PAN Hong-Chun，ZHANG Xiao-Ping (Laboratory of Molecular Evolution and Biodiversity，College of Life Sciences，Anhui Normal University，Wuhu，Anhui 241000，China)

Abstract：In order to clarify the unresolved phylogentic relationships of some lineages of the family Satyridae，the fragments of the mitochondrial COⅠ and Cytb genes of 21 Chinese species of the subfamily Elymninae and Satyrinae (Satyridae) were newly amplified and sequenced；meanwhile，the homologous sequences of two foreign species were obtained from the GenBank. Based on these data，the sequence variation and the phylogenetic relationship of these groups were analyzed. The results of the sequence analysis showed that the two combined genes is 1 056 bp in length by alignment，including 648 conserved，408 variable and 316 parsimonious-informative sites；the average percentage of A + T is 70.8%，which is much higher than that of C + G (29.2%). Using two nymphalid species as the outgroups，their phylogenetic trees were reconstructed with neighbor-joining (NJ)，maximum-parsimony (MP) and bayesian inference (BI) methods. The results indicated that the subfamilies Satyrinae，Elymninae and the tribe Lethini all are not monophyletic；the tribes Mycalesini and Lethini should be moved from the subfamily Elymninae to the subfamily Satyrinae；the tribes Satyrini，Melanargiini and Maniolini might have a closest common ancestor；and additionally，the tribes Palaeonymphini，Mycalesini and Ypthimini are also closely related to one another.

Key words：Lepidoptera；Satyridae；COⅠ gene；Cytb gene；molecular phylogentic tree；phylogeny

基金项目：安徽省"重要生物资源保护与利用"重点实验室及中青年学术带头人专项基金(590620)；安徽师范大学生物大分子重点实验室开放课题基金(2006A001)；安徽省高校学术与技术带头人专项基金；安徽省高校"生物环境与生态安全"省级重点实验室专项基金

作者简介：殷先兵，男，1969 年生，硕士研究生，从事蝶类分子系统学研究，E-mail：yxbing001@126.com

* **通讯作者** Author for correspondence，E-mail：jshaonigpas@sina.com

收稿日期 Received：2007-04-15；**接受日期** Accepted：2007-11-13

眼蝶是蝶类中物种多样性最为丰富的类群之一。全世界共有眼蝶大约 2 400 种，分布在除南极洲以外的所有大陆（Ackery *et al*.，1999）。它们是一类小型或中型蝶类，颜色通常暗而不鲜艳，大多数翅上有较醒目的眼状斑或圆纹（周尧，1998）。近几十年来，其分类学位置一直存在争议。起初，Ehrlich（1958）对眼蝶分类，将其作为蛱蝶科中的一个亚科。之后，Miller（1968）根据 Clack（1947）的分类体系将眼蝶提升为蝶亚目中的科级阶元，并制定新的亚科标准，对整个眼蝶类群重新分类（Peña *et al*.，2006）。Harvey（1991）在 Miller（1968）的基础上，参考了幼虫的形态学特征，将眼蝶重新调整为蛱蝶科的一个亚科，并将眼蝶科中的亚科和族各自下降一个分类阶元成为族和亚族。最新的形态学和分子系统学研究均表明，将眼蝶定位为蛱蝶科中的亚科较为合理（De Jong *et al*.，1996；Brower and DeSalle，1998；Ackery *et al*.，1999；Brower，2000；Wahlberg，2003，2005；Freitas and Brown，2004）。

然而，由于缺乏十分有效的形态学同源性状，迄今为止，许多眼蝶类群的分类地位和它们之间的系统发生关系还存在未解难题（Miller，1968；Ackery，1984；García-Barros and Martín，1991；Harvey，1991），一些类群的分类位置受到质疑（Ackery，1984；DeVries *et al*.，1985）。通常情况下，研究者以'前翅 1~3 条脉纹基部膨大，后翅中室闭式'作为眼蝶的形态学鉴别特征。然而，这一划分依据却存在一些例外情况（Ackery *et al*.，1999；Murray and Prowell，2005）。近年来的分子系统学研究也都表明眼蝶的系统关系较为复杂，为多系发生，其和蛱蝶科（Nymphalidae）中的闪蝶亚科（Morphinae）、螯蛱蝶亚科（Charaxininae）和绢蛱蝶亚科（Calinaginae）亲缘关系最近（Brower，2000；Wahlberg，2003，2005；Freitas and Brown，2004；Peña *et al*.，2006）。有关的分子系统学研究结果还表明眼蝶科中的许多类群（如亚科、族和属等）均非自然类群（Martin *et al*.，2000；Murray and Prowell，2005；Peña *et al*.，2006），如锯眼蝶亚科（Elymninae）和眼蝶亚科（Satyrinae）形成的聚类关系与传统的形态学分类相差很大。所以，传统的形态学分类对眼蝶科及其内部各类群的划分可能有一些不合理之处，弄清它们的系统发生关系，建立合理的分类体系，还需要进一步研究。目前，中国蝶类的分类仍按照周尧（2000）的形态学分类方法（本研究即依据此种分类），眼蝶是作为与蛱蝶科并列的科级阶元。该体系还将国内眼蝶进一步划分为 5 亚科、12 族，其中锯眼蝶亚科和眼蝶亚科是最大的 2 个亚科，包括了眼蝶中的大部分种类。但迄今为止，眼蝶的系统学研究还很有限，尤其是基于基因序列数据探讨国内眼蝶相关类群间系统发生关系的资料十分匮乏。

线粒体基因（mtDNA）是动物体内唯一存在的核外遗传信息载体，系共价闭合的环状分子，结构简单，分子量小，严格遵循母系遗传，几乎不发生倒位、易位等畸变与重组，易于检测，是研究属、种间系统发育较好的分子标记，目前被广泛用于昆虫和其他动物系统进化的研究（印红等，2003；丁少雄等，2006；郑福山等，2007）。本研究从全国不同地区采集了眼蝶科中锯眼蝶亚科和眼蝶亚科的部分种类，尝试通过 2 种线粒体基因——细胞色素氧化酶Ⅰ基因（*CO* Ⅰ）和细胞色素 b 基因（*Cytb*）的序列测定和比较分析，探讨它们及其部分类群的系统发生关系，以期为眼蝶的系统学和分类学研究提供新的依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验所用的眼蝶材料及来源见表 1。标本从野外采集后，参考周尧（1998，2000）等专著，依据外形、翅纹、翅脉、触角、复眼等形态特征进行仔细鉴定后，立即投入 75%酒精中固定，并尽快带回实验室，置于 -20℃冰箱保存备用。本研究内群包括 23 个物种，隶属 17 个属，9 个族，2 个亚科，测定了其中 21 个国内物种的 CO Ⅰ 和 Cytb 基因序列，另从 GenBank 中下载了 2 个物种的相应序列，并选取蛱蝶科的 2 个物种为外群。所有物种分类和采集信息及两种基因的 GenBank 登录号见表 1。

1.2 基因组 DNA 的提取与纯化

采取本实验室改进的玻璃粉法提取和纯化 DNA。方法：取样品背部米粒大小的肌肉置 1.5 mL Eppendorf 管中，ddH$_2$O 冲洗 2 次后，再浸泡 2~3 h；加 400~600 μL DNA 孵育液（0.5% SDS，15 mmol/L EDTA，5 mmol/L NaCl，10 mmol/L Tris-HCl，pH 7.6），40 μL PK（20 mg/mL），55℃下孵育 2 h；吸出孵育液转到新的 Eppendorf 管中，加 8 mol/L 硫氰酸胍（其量和孵育液相当）和 40 μL 50%的玻璃粉乳液，混匀后置 37℃水浴 2 h，不时摇动；取出，4 000 r/min 离心 2 min，弃上清液，沉淀用 75%乙醇冲洗 2 次，再用丙酮冲洗 1 次，每次 4 000 r/min 离心 1 min；置真空干燥机中彻底干燥；加 TE 80 μL，56℃水浴 30 min 以上；取出，4 000 r/min 离心 1 min，取上清，置 -20℃冰箱保存备用。

表 1　研究种类采集信息及 COⅠ和 Cytb 基因的 GenBank 登录号

Table 1　Collection data and GenBank accession numbers of COⅠ and Cytb genes of the species in this study

科/亚科 Family/Subfamily	族 Tribe	种 Species	采集地和时间 Sampling locality and time	GenBank 登录号 GenBank accession no.	
				COⅠ	*Cytb*
蛱蝶科 Nymphalidae					
线蛱蝶亚科 Limenitinae	**环蛱蝶族** Neptini	**中环蛱蝶** *Neptis hylas*	**海南文昌**，2005.8 Wenchang，Hainan，2005.8	DQ821137	EF095698
	线蛱蝶族 Limenitini	**戟眉线蛱蝶** *Limenitis homeyeri*	**安徽黄山**，2005.8 Huangshan，Anhui，2005.8	DQ821127	EF095691
眼蝶科 Satyridae					
锯眼蝶亚科 Elymninae	**黛眼蝶族** Lethini	**安徒生黛眼蝶** *Lethe andersoni*	**云南景洪**，2006.7 Jinghong，Yunnan，2006.7	EF545699	EF545678
		连纹黛眼蝶 *Lethe syrcis*	**安徽黄山**，2005.8 Huangshan，Anhui，2005.8	EF545700	EF545679
		蒙链荫眼蝶 *Neope muirheadi*	**安徽黄山**，2005.8 Huangshan，Anhui，2005.8	EF545706	EF545685
		棕带眼蝶 *Chonala praeusta*	**云南景洪**，2006.7 Jinghong，Yunnan，2006.7	EF545694	EF545673
		藏眼蝶 *Tatinga tibetana*	**云南丽江**，2006.7 Lijiang，Yunnan，2006.7	EF545709	EF545688
		斗毛眼蝶 *Lasiommata deidamia*	**山西五台山**，2006. 8 Wutaishan，Shanxi，2006.8	EF545698	EF545677
	眉眼蝶族 Mycalesini	**平顶眉眼蝶** *Mycalesis panthaka*	**云南景洪**，2006.7 Jinghong，Yunnan，2006.7	EF545705	EF545684
		小眉眼蝶 *Mycalesis mineus*	**云南景洪**，2006.7 Jinghong，Yunnan，2006.7	EF545704	EF545683
		纵带哈雷眼蝶 *Hallelesis halyma*	**加纳** Ghana	DQ338763	AY040177
	帻眼蝶族 Zetherini	**白斑眼蝶** *Penthema adelma*	**四川都江堰**，2006.7 Dujiangyan，Sichuan，2006.7	EF545708	EF545687
		凤眼蝶 *Neorina patria*	**四川都江堰**，2006.7 Dujiangyan，Sichuan，2006.7	EF545707	EF545686
	锯眼蝶族 Elymniini	**龙女锯眼蝶** *Elymnias nesaea*	**云南景洪**，2006.7 Jinghong，Yunnan，2006.7	EF545696	EF545675
		翠袖锯眼蝶 *Elymnias hypermnestra*	**海南文昌**，2005.8 Wenchang，Hainan，2005.8	EF545695	EF545674
眼蝶亚科 Satyrinae	**白眼蝶族** Melanargiini	**曼丽白眼蝶** *Melanargia meridionalis*	**云南丽江**，2006.7 Lijiang，Yunnan，2006.7	EF545702	EF545681
		白眼蝶 *Melanargia halimede*	**山西五台山**，2006.8 Wutaishan，Shanxi，2006.8	EF545701	EF545680
	眼蝶族 Satyrini	**蛇眼蝶** *Minois dryas*	**山西五台山**，2006.8 Wutaishan，Shanxi，2006.8	EF545703	EF545682
		细眉林眼蝶 *Aulocera merlina*	**云南丽江**，2006.7 Lijiang，Yunnan，2006.7	EF545691	EF545670
		大型林眼蝶 *Aulocera padma*	**云南丽江**，2006.7 Lijiang，Yunnan，2006.7	EF545692	EF545671
	莽眼蝶族 Maniolini	**南方火眼蝶** *Pyronia cecilia*	**西班牙** Spain	DQ338842	DQ00819
	矍眼蝶族 Ypthimini	**中华矍眼蝶** *Ypthima chinensis*	**安徽黄山**，2005.8 Huangshan，Anhui，2005.8	EF545711	EF545690
		矍眼蝶 *Ypthima balda*	**安徽黄山**，2005.8 Huangshan，Anhui，2005.8	EF545710	EF545689
	古眼蝶族 Palaeonymphini	**大艳眼蝶** *Callerebia polyhemus*	**云南丽江**，2006.7 Lijiang，Yunnan，2006.7	EF545691	EF545672
	红眼蝶族 Erebiini	**红眼蝶** *Erebia alcmena*	**山西五台山**，2006.8 Wutaishan，Shanxi，2006.8	EF545691	EF545676

分类单元依据周尧(2000)。Taxonomy following Chou (2000).

1.3 引物合成、PCR扩增及序列测定

扩增两种线粒体基因的引物均为通用引物，Cytb基因引物序列为CB1：5′-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3′，CB2：5′-ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT-3′；COⅠ基因引物序列为COⅠa：5′-GGTCAACAAATCATAAAGATATTG-3′，COⅠb：5′-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAT-3′，引物由上海申能博彩生物科技有限公司合成。PCR反应的总体积为50 μL，其中10× Buffer 5 μL，25 mmol/L $MgCl_2$ 5 μL，0.6 mg/ml BSA 7.5 μL，10 mmol/L each dNTP 1 μL，10 nmol/L引物各1 μL，DNA模板1 μL，Taq酶0.5U。反应程序为：94℃预变性5 min；94℃变性30 s，Cytb基因与COⅠ基因分别为47℃和50℃复性40 s，72℃延伸30 s，35个循环；72℃总延伸10 min。反应产物经1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测和Gel Dos图像分析仪观察。PCR产物经3S柱离心式PCR产物小量快速纯化试剂盒（上海申能博彩）纯化后，在ABI-377型DNA自动测序仪进行序列测定（上海英骏生物技术有限公司）。

1.4 序列分析

序列的多重比对由Clustal X软件（Thompson *et al*.，1997）完成，并辅以人工校对。由DAMBE软件（Xia *et al*.，2001）完成对序列的重新加工并将之转换成Mega文件，由Dnasp4软件将Mega文件转换成Nexus格式。采用Mega3.1软件（Kumar *et al*.，2004）分析各物种的COⅠ和Cytb基因的碱基组成和转换/颠换比率，基于K2P（Kimura，1980）模型计算各类群间遗传距离。

系统分析采用邻接法（Neighbor-joining，NJ），最大简约法（Maximum-parsimony，MP）和贝叶斯法（Bayesain inference）构建分子系统树，以蛱蝶科线蛱蝶族的戟眉线蛱蝶和环蛱蝶族的链环蛱蝶作为外群，从GenBank中下载同源序列进行序列比对。以Mega3.1软件基于K2P模型构建NJ树，系统发生树采用1 000次内部分支检验来评估各自分支置信度；以Paup4.0b10软件（Swofford，2002）构建MP树，系统树各分支的置信度以1 000次自举检验值表示；根据Modeltest3.6（Posada and Crandall，1998）软件估算出数据最优模型为GTR + I + G。以Mrbayes 3.1.2软件（Huelsenbeck and Ronquist，2001）构建贝叶斯树，lset设置替换模型nst = 6（GTR模型），位点速率变异模型设置为rates = gamma。同时建立4个马尔可夫链，以随机树为起始树，共运行100万代，每100代抽样一次，重复一次，在舍弃老化样本后（2 500代），根据剩余样本构建一致树，并计算相关参数，系统树各分支的置信度评估以后验概率表示。两次贝叶斯法分析在饱和时得到了相似的对数似然值，这表明马尔科夫链是收敛的，可以相信贝叶斯法的分析结果。

2 结果

2.1 碱基组成及序列变异

测定了眼蝶科锯眼蝶亚科和眼蝶亚科中21个种的COⅠ基因约660 bp和Cytb基因约430 bp（已提交GenBank，登录号见表1）。结合从GenBank中获得的2个其他种，经Clustal X软件比对后，以DAMBE软件剪切掉两端序列和中间的插入序列，COⅠ基因的序列长度为651 bp，Cytb基因的序列长度为405 bp。将2基因联合，序列的总长度为1 056 bp。Mega3.1软件分析结果：保守位点648个，可变位点408个，简约信息位点316个；A，T，C和G 4碱基的平均含量分别为30.0%，40.8%，16.6%和12.6%，其中A + T的平均含量为70.8%，明显高于C + G的平均含量29.2%；内群各代表种间的遗传距离，平顶眉眼蝶 *Mycalesis panthaka* 和小眉眼蝶 *Mycalesis mineus* 间的遗传距离最小，南方火眼蝶 *Pyronia cecilia* 和蒙链荫眼蝶 *Neope muirheadi* 的遗传距离最大。内群物种间序列位点变异总体上表现为转换数略多于颠换数（表2）。序列间的变异饱和分析显示，随着序列间差异程度的增加，碱基的转换和颠换均成线型增长，并未出现饱和现象。

2.2 分子系统树

本研究以COⅠ和Cytb基因序列联合数据构建了NJ树（图1）、MP树（图2）和贝叶斯树（图3）。其中，NJ树的置信度以内部分支检验表示，MP树的置信度以自举检验值表示，贝叶斯树的置信度以后验概率表示。置信度低于50%，系统树不作显示。3种不同方法构建的分子系统树基本一致，其中，MP树和贝叶斯树的拓扑结构非常接近。

NJ树显示，所有内群形成3个平行的支系：（1）锯眼蝶族和帻眼蝶族（Zetherini）形成一个支系；（2）黛眼蝶族（Lethini）中的2个属黛眼蝶属 *Lethe* 和荫眼蝶属 *Neope* 聚合在一起与红眼蝶族（Erebiini）形成一个支系；（3）其余种类形成一个大的支系。这个大的支系又明显形成两大分支：一支包括古眼蝶族（Palaeonymphini）、眉眼蝶族（Mycalesini）、矍眼蝶族（Ypthimini）以及黛眼蝶族的其余3个属藏眼蝶属

Tatinga、带眼蝶属 *Chonala* 和毛眼蝶属 *Lasiommata*，其中黛眼蝶族的 3 个属形成一个单系结构；而另一支则由眼蝶族（Satyrini）、白眼蝶族（Melanargiini）、莽眼蝶族（Maniolini）组成。

MP 树和贝叶斯树与 NJ 树略有不同：所有内群仅形成 2 大支系，锯眼蝶族和帻眼蝶族形成一个支系与其余类群构成姊妹关系，锯眼蝶族和帻眼蝶族之间亦互为姊妹关系。其中贝叶斯树中，黛眼蝶族中的藏眼蝶属、带眼蝶属和毛眼蝶属尽管仍然形成单系构，但聚合位置发生了变化，它们和本研究中除红眼蝶族以外眼蝶亚科的其它所有类群形成姊妹类群。

本研究构建的 3 棵分子系统树拓扑结构虽然有所不同，但均显示原形态分类体系中的眼蝶亚科、锯眼蝶亚科以及黛眼蝶族为多系发生的类群。其中，黛眼蝶族的 5 个属均分为 2 个部分：藏眼蝶属、带眼蝶属和毛眼蝶属聚合在一起形成一个单系结构，而荫眼蝶属和黛眼蝶属则与红眼蝶族相聚合。蛇眼蝶属 *Minois* 和林眼蝶属 *Aulocera*（眼蝶族）形成单系，它们再依次与白眼蝶族和莽眼蝶族聚合为一个独立的支系。古眼蝶族、眉眼蝶族和矍眼蝶族聚合为一个独立的支系。

3　讨论

3.1　序列变异分析

将 23 种眼蝶的 COⅠ基因和 Cytb 基因联合起来分析，结果表明，A，T，C 和 G 4 种碱基的平均含量分别为 30.0%，40.8%，16.6%和 12.6%，其中 A+T 的平均含量为 70.8%，明显高于 C+G 的平均含量 29.2%，表现出明显的 A+T 含量偏倚，这与其他文献报导的昆虫线粒体基因序列分析的结果一致（DeSalle *et al*.，1987；Brower and DeSelle，1998；Dai and Zhang，2004；陈振鹏和周善义，2007）。

3.2　锯眼蝶亚科和眼蝶亚科的系统发生关系

本研究结果显示锯眼蝶亚科和眼蝶亚科均是多系发生的，3 种分子系统树均显示，锯眼蝶亚科中的黛眼蝶族和眉眼蝶族均没有和同样来自锯眼蝶亚科的其它类群相聚合，而是和眼蝶亚科中的类群聚合在一起；贝叶斯树和 MP 树更是显示，这 2 个族与所有的眼蝶亚科的类群聚合在一起形成一个独立的分支，与锯眼蝶亚科形成的分支互为姊妹类群。这些结果表明，与锯眼蝶亚科相比较，黛眼蝶族和眉眼蝶族与眼蝶亚科的类群具有更近的亲缘关系。Peña 等（2006）利用了 3 个基因（*CO* Ⅰ，*EF*-1α 和 *Wingless*）

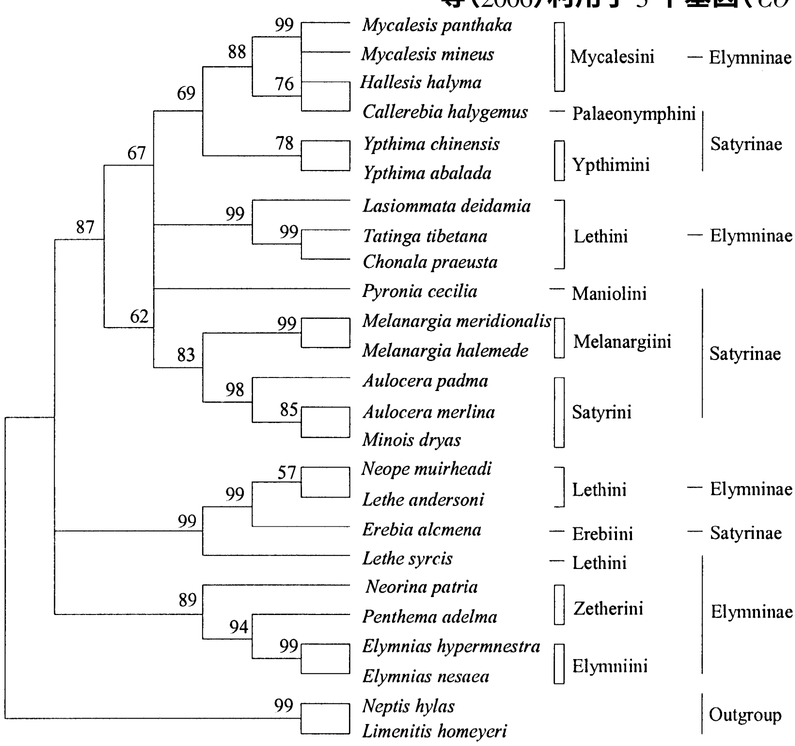


图 1　线粒体 COⅠ和 Cytb 基因联合构建的 NJ 树

Fig. 1　NJ tree based on the combined data of mitochondrial COⅠ and Cytb gene sequences

各分支上的数字为内部分支检验值（1 000 次重复），下同。Numbers on each node are values of interior branch test（1 000 replicates）。The same below.

结合形态学数据对世界范围内眼蝶的系统发生关系进行了分析，并以此为依据，在 Harvey 等(1991)基础上建立了一个新的眼蝶分类体系。该体系对锯眼蝶族(对应于本文的锯眼蝶亚科)和眼蝶族(对应于本文的眼蝶亚科)的划分作了较大的调整，将原属于锯眼蝶族的黛眼蝶亚族(对应于本文的黛眼蝶族)和眉眼蝶亚族(对应于本文的眉眼蝶族)归入眼蝶族。很显然，本研究的结果支持作这样的修改。所以，笔者认为，Peña 等(2006)的分类系统具有可操作性，可作为建立新的眼蝶分类体系的一个重要标尺。

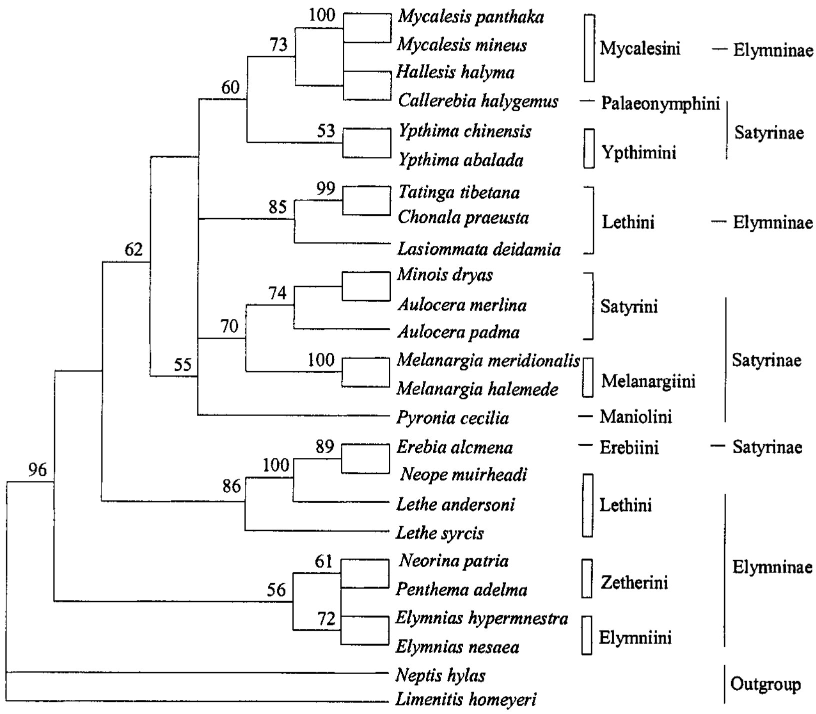


图 2 线粒体 COⅠ和 Cytb 基因联合构建的 MP 树

Fig. 2 NJ tree based on the combined data of mitochondrial COⅠ and Cytb gene sequences

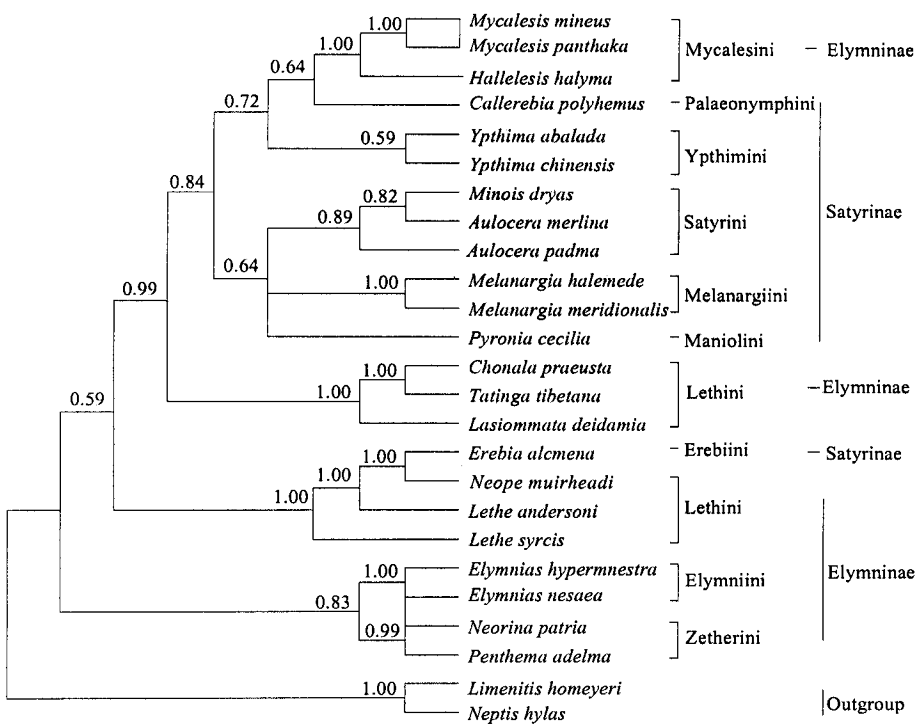


图 3 线粒体 COⅠ和 Cytb 基因联合构建的贝叶斯树

Fig. 3 The Bayesian tree from the combined data of mitochondrial COⅠ and Cytb gene sequences

各分支上的数字为后验概率 Numbers on each node are posterior probability values.

3.3　黛眼蝶族和红眼蝶族的系统发生关系

本研究结果显示黛眼蝶族为多系群，与 Martin 等(2000)和 Peña 等(2006)的研究结果一致。黛眼蝶族原隶属于锯眼蝶亚科，但 Peña 等(2006)和本研究的结果均倾向于将其从锯眼蝶亚科中分离出来，归入眼蝶亚科。本研究用不同方法构建的分子系统树均显示，黛眼蝶族的类群聚合为 2 支：带眼蝶属、藏眼蝶属和毛眼蝶属聚合为一支，与传统的形态学分类相一致；而荫眼蝶属、黛眼蝶属和红眼蝶属聚合形成另一支。令人意外的是红眼蝶属的位置，红眼蝶属隶属于红眼蝶族，形态学上与黛眼蝶族的类群差别较大，如黛眼蝶族的蝶类眼常有毛，后翅 M_3 脉与 Cu_1 脉基部接触；而红眼蝶族的蝶类眼常无毛，M_3 脉与 Cu_1 脉基部明显分开(周尧，1998)。Martin 等(2000)利用 16S 和 ND1 基因的研究结果显示，红眼蝶族与白眼蝶族聚合在一起；而 Peña 等(2006)的研究结果显示，红眼蝶亚族(对应于本文的红眼蝶族)与眼蝶亚族(对应于本文的眼蝶族)聚合在一起。因而，红眼蝶族确切的系统学位置尚无法确定，有待进一步研究。不过，综合形态学和分子系统学的研究结果，将红眼蝶族放在眼蝶亚科还是比较合理的。

3.4　眼蝶族和眉眼蝶族的系统发生关系

本研究通过不同方法构建的分子系统树当中，隶属于莽眼蝶族的火眼蝶属和隶属于白眼蝶族的白眼蝶属均与眼蝶族聚合在一起形成一个支系，显示莽眼蝶族、白眼蝶族和眼蝶族三者之间具有较近的亲缘关系。Martin 等(2000)的研究结果显示，莽眼蝶族先是与眼蝶族聚合在一起，再与白眼蝶族聚合在一个大的支系里面；Peña 等(2006)的研究结果显示，莽眼蝶亚族(本文的莽眼蝶族)与白眼蝶亚族(本文的白眼蝶族)聚合在一起，且与眼蝶亚族(本文的眼蝶族)位置比较接近。形态学上，这 3 族蝶类均属于中型或小型种类，前翅 Sc 脉基部膨大(周尧，1998)。综合这些结论可知，眼蝶族、白眼蝶族和莽眼蝶族三者之间的系统发生关系比较接近，它们可能具有较近的共同祖先。

表 2　本研究中 23 种眼蝶间的转换/颠换 R 值和遗传距离(基于 Kimura-2-parameter 模型)

Table 2　The transition/transversion ratio and the genetic distances based on the Kimura-2-parameter model among 23 satyrine species in this study

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1		4.563	1.654	1.143	1.008	0.815	0.898	0.919	0.984	0.960	1.053	0.927	0.925	1.361	0.734	0.910	0.930	0.848	0.787	0.792	0.721	1.125	0.935
2	0.037		1.714	1.292	1.037	1.048	1.038	0.934	0.999	0.949	1.125	0.970	0.858	1.313	0.748	0.941	0.960	0.873	0.900	0.814	0.726	1.108	1.092
3	0.126	0.121		0.982	1.324	1.038	1.056	1.143	1.197	1.057	1.352	1.210	1.108	1.316	0.884	1.143	0.991	0.961	1.020	0.898	0.843	1.277	1.081
4	0.143	0.146	0.128		1.700	1.066	1.215	1.056	1.254	1.070	1.260	1.198	1.201	1.341	0.907	1.192	1.060	1.177	1.048	1.035	0.786	1.092	1.362
5	0.163	0.163	0.173	0.149		1.431	1.067	1.345	1.428	1.033	1.678	1.266	1.426	1.533	1.127	1.221	1.190	1.098	1.191	1.227	1.083	1.194	1.822
6	0.113	0.121	0.136	0.116	0.139		0.890	0.884	0.972	0.604	1.049	0.824	0.728	1.066	0.718	0.919	0.949	0.732	0.980	0.875	0.568	0.767	1.067
7	0.137	0.136	0.139	0.145	0.165	0.108		0.860	0.869	0.892	1.107	0.892	0.939	1.253	0.663	0.947	0.836	0.863	0.858	0.957	0.774	0.860	0.980
8	0.130	0.129	0.141	0.139	0.152	0.116	0.140		6.035	1.110	1.173	1.004	1.169	1.225	0.810	1.126	0.922	0.950	1.035	0.881	0.718	1.144	1.178
9	0.130	0.129	0.144	0.143	0.152	0.117	0.137	0.040		1.265	1.213	1.086	1.211	1.436	0.826	0.988	0.927	0.974	1.107	1.012	0.826	1.185	1.178
10	0.122	0.128	0.142	0.129	0.156	0.100	0.132	0.090	0.096		0.905	0.806	0.736	1.125	0.592	0.959	0.898	0.869	0.819	0.650	0.644	0.802	0.872
11	0.133	0.130	0.162	0.136	0.147	0.124	0.134	0.110	0.117	0.131		1.013	1.371	1.452	0.702	1.011	0.919	0.927	0.974	0.888	0.822	1.091	1.094
12	0.137	0.134	0.157	0.142	0.154	0.118	0.132	0.110	0.119	0.124	0.035		1.108	1.230	0.698	1.073	0.944	0.951	0.845	0.866	0.789	0.902	1.075
13	0.135	0.120	0.143	0.135	0.141	0.102	0.134	0.117	0.119	0.118	0.111	0.098		2.070	1.034	0.866	0.934	0.828	0.968	0.728	0.649	0.858	1.126
14	0.155	0.144	0.142	0.139	0.137	0.118	0.146	0.129	0.137	0.130	0.130	0.123	0.084		1.239	1.095	1.108	1.109	1.178	1.042	0.966	1.228	1.486
15	0.154	0.149	0.159	0.157	0.163	0.122	0.146	0.127	0.128	0.138	0.121	0.092	0.086	0.114		0.950	0.958	0.968	0.841	0.908	0.637	0.795	0.959
16	0.159	0.164	0.155	0.163	0.178	0.143	0.156	0.156	0.154	0.154	0.145	0.141	0.145	0.158	0.145		1.308	1.058	0.996	1.196	0.929	0.961	1.067
17	0.139	0.139	0.139	0.149	0.175	0.128	0.143	0.132	0.137	0.137	0.130	0.123	0.129	0.145	0.137	0.068		1.231	1.348	1.125	1.036	1.107	1.127
18	0.160	0.160	0.157	0.150	0.170	0.135	0.143	0.145	0.138	0.137	0.137	0.130	0.120	0.148	0.131	0.075	0.067		1.149	1.162	0.865	0.978	0.986
19	0.137	0.139	0.159	0.157	0.165	0.105	0.148	0.131	0.132	0.123	0.138	0.121	0.131	0.145	0.137	0.125	0.097	0.114		1.020	0.736	1.011	1.107
20	0.170	0.161	0.171	0.160	0.158	0.131	0.152	0.146	0.148	0.145	0.140	0.115	0.127	0.145	0.121	0.147	0.137	0.137	0.135		0.593	0.806	1.228
21	0.141	0.144	0.147	0.151	0.169	0.129	0.144	0.128	0.128	0.128	0.134	0.116	0.130	0.146	0.135	0.152	0.134	0.125	0.118	0.081		1.547	0.890
22	0.140	0.141	0.140	0.146	0.151	0.112	0.140	0.129	0.127	0.122	0.142	.129 0	.120 0	0.125	0.141	0.157	0.136	0.143	0.121	0.132	0.077		1.003
23	0.144	0.149	0.164	0.171	0.170	0.122	0.163	0.145	0.145	0.139	0.156	0.145	0.156	0.166	0.154	0.165	0.161	0.170	0.132	0.125	0.153	0.134	

对角线线上方为转换/颠换比值，平均值为 1.064；下方为遗传距离，平均值为 0.135。The values of transition/transversion (mean is 1.064) are shown above the diagonal, and the genetic distance (mean is 0.135) are shown below the diagonal. 1. 平顶眉眼蝶 *Mycalesis panthaka*；2. 小眉眼蝶 *Mycalesis mineus*；3. 纵带哈雷眼蝶 *Hallelesis halyma*；4. 大艳眼蝶 *Callerebia polyhemus*；5. 南方火眼蝶 *Pyronia cecilia*；6. 中华矍眼蝶 *Ypthima chinensis*；7. 矍眼蝶 *Ypthima balda*；8. 藏眼蝶 *Tatinga tibetana*；9. 棕带眼蝶 *Chonala praeusta*；10. 斗毛眼蝶 *Lasiommata deidamia*；11. 曼丽白眼蝶 *Melanargia meridionalis*；12. 白眼蝶 *Melanargia halimede*；13. 细眉林眼蝶 *Aulocera merlina*；14. 蛇眼 *Minois dryas*；15. 大型林眼蝶 *Aulocera padma*；16. 蒙链荫眼蝶 *Neope muirheadi*；17. 安徒生黛眼蝶 *Lethe andersoni*；18. 红眼蝶 *Erebia alcmena*；19. 连纹黛眼蝶 *Lethe syrcis*；20. 白斑眼蝶 *Penthema adelma*；21. 龙女锯眼蝶 *Elymnias nesaea*；22. 翠袖锯眼蝶 *Elymnias hypermnestra*；23. 凤眼蝶 *Neorina patria*.

眉眼蝶族原隶属于锯眼蝶亚科，但本研究结果显示，其与来自眼蝶亚科的古眼蝶族、矍眼蝶族形成聚类关系。从形态学上来看，古眼蝶族、眉眼蝶族和矍眼蝶族体色和斑纹有一定的相似性，前后翅的翅脉亦较接近。眉眼蝶族前翅有 3 条脉纹基部膨大，分别是 Sc 脉、Cu_2 脉和 2A 脉，而古眼蝶族和矍眼蝶

族前翅 Sc 脉基部膨大，Cu_2 脉基部也略有膨大（周尧，1998），后者可能暗示三者间的共同衍征。综合 Peña 等（2006）的分析结果，笔者认为，古眼蝶族、眉眼蝶族和矍眼蝶族三者之间具有较近的亲缘关系，将眉眼蝶族从锯眼蝶亚科分离出来归入眼蝶亚科应该更为合理。

参 考 文 献（References）

Ackery PR, 1984. Systematic and faunistic studies on butterflies. In: Vane-Wright RI, Ackery PR eds. The Biology of Butterflies. Princeton: Princeton University Press. 9 – 21.

Ackery PR, De Jong R, Vane-Wright RI, 1999. The butterflies: Hedyloidea, Hesperoidea and Papilionoidea. In: Kristensen NP ed. Lepidoptera: Moths and Butterflies. 1. Evolution, Systematics and Biogeography. Handbook of Zoology, vol. IV. Berlin: Walter de Gruyter. Part 35.

Brower AVZ, DeSalle R, 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butterflies: the utility of wingless as a source of characters for phylogenetic inference. *Insect Mol. Biol.*, 7: 73 – 82.

Brower AVZ, 2000. Phylogenetic relationships among the Nymphalidae (Lepidoptera) inferred from partial sequences of the wingless gene. *Proc. R. Soc. Lond.* B, 267: 1 201 – 1 211.

Chen ZP, Zhou SY, 2007. Molecular systematic study on twelve species of seven genera in Myrmicinae (Hymenoptera: Formicidae) from Guangxi, South China. *Acta Entomol. Sin.*, 50 (4): 395 – 404. [陈振鹏，周善义，2007. 切叶蚁亚科七属十二种的分子系统学研究. 昆虫学报，50 (4): 395 – 404]

Chou I, 1998. Classification and Identification of Chinese Butterflies. Zhengzhou: Henan Science and Technology Publishing House. [周尧，1998. 中国蝴蝶分类与鉴定. 郑州：河南科学技术出版社]

Chou I, 2000. Monographia Rhaopalocerorum Sinensium (Revised Edition). Zhengzhou: Henan Scientific and Technological Publishing House. [周尧，2000. 中国蝶类志（修订版）. 郑州：河南科学技术出版社]

Clark AH, 1947. The interrelationships of the several groups within the butterfly superfamily Nymphaloidea. *Proc. Entomol. Soc. Washington*, 49: 148 – 149, 192 (erratum).

DeSalle R, Freedman T, Prager EM, 1987. Tempo and mode of sequence evolution in mitochonodrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. *J. Mol. Evol.*, 26: 157 – 164.

De Jong R, Vane-Wright RI, Ackery PR. 1996. The higher classification of butterflies (Lepidoptera): problems and prospects. *Entomol. Scand.*, 27: 65 – 101.

DeVries PJ, 1985. Hostplant records and natural history notes on Costa Rican butterflies (Papilionidae, Pieridae & Nymphalidae). *J. Res. Lepidoptera*, 24: 290 – 333.

Ding XS, Wang YH, Wang J, Zhuang X, Su YQ, You YZ, Li QF, 2006. Molecular phylogenetic relationships of 30 grouper species in China Seas based on 16S rDNA fragment sequences. *Acta Zool. Sin.*, 52 (3): 504 – 513. [丁少雄，王颖汇，王军，庄轩，苏永全，尤颖哲，李祺福，2006. 基于 16SrDNA 部分序列探讨中国近海 30 种石斑鱼类的分子系统进化关系. 动物学报，52 (3): 504 – 513]

Ehrlich PR, 1958. The comparative morphology, phylogeny and higher classification of the butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea). *Univ. Kansas Sci. Bullet.*, 39: 305 – 370.

Freitas AVL, Brown KSJr, 2004. Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). *Syst. Biol.*, 53: 363 – 383.

García-Barros E, Martín J, 1991. Immature stages of *Hipparchia* Fabricius and the systematics of the *Satyrus* series (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae). *Syst. Entomol.*, 16: 407 – 426.

Harvey DJ, 1991. Higher classification of the Nymphalidae, Appendix B. In: Nijhout HF ed. The Development and Evolution of Butterfly Wing Patterns. Washington, DC: Smithsonian Institution Press.

Huelsenbeck JP, Ronquist F, 2001. Mrbayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinform.*, 17 (8): 754 – 755.

Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R, 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294: 2 310 – 2 314.

Kimura M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16: 111 – 120.

Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief Bioinform.*, 5: 150 – 163.

Martin JF, Gilles A, Descimon H, 2000. Molecular phylogeny and evolutionary patterns of the European satyrids (Lepidoptera: Satyridae) as revealed by mitochondrial gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 15: 70 – 82.

Miller LD, 1968. The higher classification, phylogeny and zoogeography of the Satyridae (Lepidoptera). *Mem. Amer. Entomol. Soc.*, 24: 1 – 174.

Murray D, Prowell DP, 2005. Molecular phylogenetics and evolutionary history of the neotropical Satyrine subtribe Euptychiina (Nymphalidae: Satyrinae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 34: 67 – 80.

Peña C, Wahlberg N, Weingartner E, 2006. Higher lever phylogeny of Satyrinae butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae) based on DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 40: 29 – 49.

Posada D, Crandall KA, 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinform.*, 14: 817 – 818.

Swofford DL, 2002. PAUP* 4.0610: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods), beta version. Sunderland: Sinauer Associates.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG, 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.*, 24: 4 876 – 4 882.

Wahlberg N, Weingartner E, Nylin S, 2003. Towards a better understanding of the higher systematics of Nymphalidae (Lepidoptera: Papilionoidea). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 28: 473 – 487.

Wahlberg N, Braby MF, Brower AVZ, de Jong R, Lee MM, Nylin S, Pierce NE, Sperling FAH, Vila R, Warren AD, Zakharov E, 2005. Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. *Proc. R. Soc. Lond.*, *B*, 272: 1 577 – 1 586.

Xia X，Xie Z，2001. DAMBE：Data analysis in molecular biology and evolution. *J. Heredity*，92：371－373.

Yin H，Zhang DC，Bi ZL，Yin Z，Liu Y，Yin XC，2003. Molecular phylogeny of some species of the Acridoidae based on 16S rDNA. *Acta Genet. Sin.*，30（8）：766－772.［**印红，张道川，毕智丽，印展，刘勇，印象初**，2003. **蝗总科部分种类** 16S rDNA **的分子系统学发育关系. 遗传学报**，30（8）：766－722］

Zheng FS，Du YZ，Wang ZJ，Wang LP，2007. Molecular phylogeny of *Galerucella* spp.（Coleoptera：Chrysomelidae：Galerucinae）based on mitochondrial cytochrome oxidase Ⅰ gene. *Acta Entomol. Sin.*，50（5）：501－507.［**郑福山，杜予州，王志杰，王莉萍**，2007. **基于线粒体** CO Ⅰ **基因序列的小萤叶甲属部分种类分子系统学研究. 昆虫学报**，50（5）：501－507］

（责任编辑：袁德成）